Aus dem Laboratorium Hochdruckforschung
(Professor Dr. med. E. Wollheim)
im Universitätsklinikum Würzburg

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ETWAIGEN ANTEIL VON KALLIKREIN AN EINER BEIM NORMOTONEN VASOAKTIVEN, BEI DER ESSENTIELLEN HYPERTONIE INAKTIVEN POLYPEPTIDFRAKTION DES HARNS

Inaugural-Dissertation
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Andreas Wiener
aus Temesburg

Würzburg, den 26. Aug. 1981

Aus dem Laboratorium Hochdruckforschung
(Professor Dr. med. E. Wollheim)
im Universitätsklinikum Würzburg

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ETWAIGEN ANTEIL VON KALLIKREIN AN EINER BEIM NORMOTONEN VASOAKTIVEN, BEI DER ESSENTIELLEN HYPERTONIE INAKTIVEN POLYPEPTIDFRAKTION DES HARNS

Inaugural-Dissertation
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Andreas Wiener
aus Temesburg

Würzburg, den 26. Aug.1981

Referent: Professor Dr.med.A.Heidland

Korreferent: Professor Dr.med.K.Kochsiek

Dekan: Professor Dr.med.K.-H.Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.1981

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Medizinischen
Fakultät der Universität Würzburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Herrn Professor Dr.med.E.Wollheim gewidmet

in dankbarer Erinnerung

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543519_0071

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Literaturüberblick	4
3.	Methodik und Material	12
3.1	Methode der Harnuntersuchung	12
3.2	Bestimmung der Kallikreinaktivität	14
3.2.1	Chemische Grundlagen zur Bestimmung des Kallikreins	14
3.2.2	Vorbereitung der Messung	14
3.2.3	Durchführung der Messung	15
3.2.4	Berechnung	16
3.2.5	Umrechnung in andere Einheiten	16
3.2.6	Fehlerquellen	17
3.3	Untersuchte Kontrollen und Patientengruppen	19
4.	Ergebnisse	
4.1	Blutdrucksenkung der vasoaktiven Polypeptidfraktion	21
4.2	Kallikreinwerte in der vasoaktiven Polypeptidfraktion	23
4.3	Zusammenhänge zwischen Kallikreinkonzentration in der vasoaktiven Fraktion und Blutdrucksenkung im Tierversuch	27
4.4	Statistische Auswertung	31
5.	Diskussion	33
6.	Zusammenfassung	39
Literaturverzeichnis		I - XVIII

1. E I N L E I T U N G

Bei der Suche von Zusammenhängen zwischen Herztätigkeit und Nierenfunktion hatte E.K.Frey (21) 1925 Hundeharn anderen Hunden intravenös injiziert und den Blutdruck in einer Arteria Carotis gemessen. Er beobachtete dabei,dass der arterielle Blutdruck sank.Frey war überzeugt einen Stoff gefunden zu haben, der eine wichtige Funktion auf die Herztätigkeit ausübt.Frey trat an den Chemiker Heinrich Kraut heran,der schon einige Erfahrung mit der Bearbeitung von hitzelabilen Stoffen mit hohem Molekulargewicht hatte.Das Ziel war ein Verfahren zu entwickeln,um die entdeckte Substanz zu gewinnen.Dazu wurde aus einer Sammelmenge von 5o Litern Harn 5 ml 48 Stunden lang dialysiert und mit Benzoylsäure stabilisiert und getrocknet.Frey nannte diese Substanz "F-Stoff". Werle fand 193o im Pankreas wesentlich höhere Konzentrationen von dieser blutdrucksenkenden Substanz und so wird dieser "F-Stoff" nach dem griechischen καλλικρεας (Bauchspeicheldrüse) Kallikrein genannt.

Elliot und Nuzum (22) führten 1934 die ersten Kallikreinbestimmungen im Harn von Patienten mit essentieller Hypertonie durch und fanden eine verminderte Kallikrein-Ausscheidung (55% des Normalen).

Werle (7o),der 1938 ähnliche Werte fand,brachte Kallikrein in Verbindung mit der Pathophysiologie der essentiellen Hypertonie.Er nahm an,dass ein Mangel an Kallikrein mitverantwortlich für die Auslösung einer essentiellen Hypertonie sein könnte.

Wollheim und Lange (71) berichteten 1932 über einen depressorischen Stoff im Harn und sein Verhalten bei der Blutdruckkrankheit.Diese Substanz,die aus dem Urin gesunder Probanden isoliert wurde,schien mit keinem der damals bekannten blutdrucksenkenden Substanzen,auch nicht mit Kallikrein,identisch zu sein. 1936 zeigte Wollheim (72) weiterhin,dass diese Substanz sowohl eine Blutdrucksenkung im grossen Kreislauf,als auch am isolierten Gefäss herbeiführt, weiterhin,dass sie im Gegensatz zu Kallikrein keinerlei Einfluss auf das Herz,Lungenkreislauf oder isoliertem Darmmuskel hat.In wesentlich späteren Veröffentlichungen (77,8o) zeigte er,dass bei fortlaufender blutiger Messung des Blutdrucks,beim Kaninchen nach Applikation des Stoffes von 5ug/kg Körpergewicht intravenös,sich eine Senkung um mindestens 2o% über drei Minuten messen lässt.Bei Patienten mit essentieller Hypertonie wurde im Harn dieser Stoff nicht oder nur in kleinen Mengen gefunden.Daraus zog Wollheim die Schlussfolgerung,dass die im Harn der essentiellen Hypertoniker fehlende oder vermindert ausgeschiedene Substanz einen Hinweis auf einen genetischen Defekt

bei Hochdruckkranken geben könnte.Neuere Untersuchungen (4,11,12,8o) scheinen dies zu belegen. Bei Kindern und Soldaten wird zwischen der im Tierversuch erreichten Blutdrucksenkung und der Hypertoniebelastung in der Familienanamnese eine gute Korrelation gefunden.

Aufgabe dieser Arbeit ist es zu prüfen,ob die im Bioassay gefundenen blutdrucksenkenden Effekte der vasoaktiven Polypeptidfraktion etwa durch in dieser Substanz vorhandenes Kallikrein hervorgerufen würde,oder völlig unabhängig vom Kallikrein entstehen.

2. L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T

Kallikrein und Hypertonie

In den Jahren nach 1938 verlor sich das Interesse an der Erforschung des Kallikreins,da ein Grossteil der Hypertonieforschung sich auf das Renin-Angiotension-System konzentrierte.Erst 1971 stieg das Interesse für das Kallikrein-Kinin-System,als abermals von Margolius (39,4o) festgestellt wurde,dass sich bei Personen mit essentieller Hypertonie eine verminderte Kallikreinausscheidung beobachten lässt.In seiner Untersuchung betrug die durchschnittliche Kallikreinausscheidung 45% des Normalen,allerdings mit einer grossen Streuung der Einzelwerte.Auch beobachtete er,dass Patienten mit renalem Hochdruck sowie gesunde Probanden gleiche Mengen von Kallikrein ausschieden,wobei er zugab,dass bei über der Hälfte von allen Kollektiven die Kallikreinwerte im Normbereich lagen.Margolius achtete darauf unter möglichst günstigen Bedingungen zu arbeiten.Er bestimmte die Kallikreinaktivität im Harn von Personen,die unter den gleichen Bedingungen lebten und somit auch unter dem gleichen Einfluss von Nahrung,Schlaf und äusseren klimatischen Änderungen standen.Dies ist von besonderer Bedeutung,weil später von mehreren Autoren (38,43,55) gezeigt wurde,dass eine gleichmässige Diät die vorher beobachtete Streuung der Kallikrein-

ausscheidung beseitigt.

Die Beobachtungen von Margolius wurden von weiteren Autoren bestätigt.Zinner (82,83) bestimmte die Kallikreinausscheidung bei 6oo Kindern in 163 Familien und stellte fest,dass bei Familien mit den niedrigsten Kallikreinkonzentrationen eher eine Tendenz zu höheren Blutdruckwerten als bei Familien mit niedriger Kallikreinkonzentration zu beobachten war.Diese Unterschiede waren jedoch gering und unterlagen grossen Schwankungen.
Abe (1) fand eine um bis zu 5o% geringere Kallikreinausscheidung bei Patienten mit essentieller Hypertonie.Nach Gabe von Furosemid beobachtete er einen noch grösseren Unterschied in der Kallikreinausscheidung zwischen Gesunden und Hochdruckkranken.Er zog daraus die Schlussfolgerung,dass die Verminderung der Kallikrein-und Kininausscheidung im Urin bei der essentiellen Hypertonie auf der Unterdrückung der Synthese oder Aktivierung des Kallikrein-Kinin-Systems in der Niere beruhen könnte.
Sehr ähnliche Ergebnisse hat auch Seino (64) 1975 gefunden.Seine gesunden Probanden schieden bis zu 67% mehr Kallikrein aus als Patienten mit essentieller Hypertonie.Er glaubte,dass das renale Kallikrein-Kinin-System ein renaler antihypertensiver Faktor wäre und dass dieser bei der Krankheit der essentiellen Hypertonie unterdrückt würde.

Verschiedene Untersucher beobachteten eine funktionelle Verknüpfung zwischen Kallikrein-Kinin-System und Renin-Angiotensin-System.Mills (45,47) berichtete,dass eine erniedrigte Kallikreinausscheidung im Blutkreislauf während einer renalen Gefässverengung oder einer beginnenden Niereninsuffizienz erst den hypertensiven Effekt der Reninfreisetzung hervorruft und man damit Kallikrein eine schützende Wirkung auf die renale Vasokonstriktion zusprechen könnte.Levy (37) stellte fest,dass bei einer Natriummangeldiät die Kallikreinkonzentration im Harn und das Plasmarenin in gleicher Weise ansteigen.Urinkallikrein korrelierte mit dem renalen Blutstrom.Weiterhin wurde beobachtet,dass eine vermehrte Bildung von Renin zu einer erhöhten Ausscheidung von Kallikrein führte (24,42).Sealy et al. (63) konnte zeigen,dass Urinkallikrein in vitro in der Lage ist,inaktives Plasmarenin in ein Enzym mit reninartiger Aktivität umzuwandeln.

In einer neueren Arbeit verglich Carretero (15) die Kallikreinausscheidung bei Patienten mit essentieller Hypertonie von weisser und schwarzer Hautfarbe.Er stellte fest,dass gesunde Schwarze weniger Kallikrein ausscheiden als gesunde Weisse und,dass essentielle Hypertoniker weisser und schwarzer Hautfarbe beide niedrigere Kallikreinwerte aufweisen als ihre zugehörige Kontrollgruppe.

Zwar zeigten die berechneten arithmetischen Mittelwerte der verschiedenen Gruppen Unterschiede auf,jedoch sind die Überlappungen und Streuungen der Einzelwerte um mehrere hundert Prozent so hoch,dass seine Aussagen bei näherer Betrachtung keine zwingende Schlussfolgerung erlauben.Auch Zinner berichtete über niedrigere Kallikreinkonzentrationen im Urin von schwarzen gegenüber weissen Kindern.

Croxatto (18,19),Geller (24) und Porcelli (57) bestätigen in manchen Punkten die bisher genannten Befunde bei verschiedenen Tierversuchen.Sie fanden bei verschiedenen Rassen von Hochdruckratten (New Zealand Rasse,Milano Rasse,Wistar-Otago Rasse) erniedrigte Kallikreinwerte im Urin. Geller (24) machte bei seinen Tierversuchen folgende Beobachtung. Seine 16 Wochen alten normotensiven Ratten schieden zunächst gleiche Mengen Kallikrein aus wie die gleichaltrigen genetisch hypertensiven Ratten.Die hypertensiven Ratten hatten seit der 2.Woche nach der Geburt einen erhöhten Blutdruck.Erst wenn die spontan hypertensiven Ratten 23 Wochen alt wurden, schieden sie wesentlich weniger Kallikrein aus als die normotensiven Ratten.In dem Tierversuch von Croxatto (19) schieden die Ratten mit erhöhtem Blutdruck (P_s über 15o mmHg) nur ein Drittel der Urinkallikreinmenge im Vergleich zu normotonen Ratten aus.Carretero (16) wies nach,dass,wenn die Kallikreinausscheidung auf das Körpergewicht

der Ratten bezogen wurde,keine signifikante Differenz zwischen hypertensiven und Kontrolltieren festzustellen war.Genetisch hypertensive Ratten wiegen weniger als ihre normotonen Kontrollen.

Arrigoni-Martelli (5) zeigte,dass Ratten aus dem Sprague-Dawley Stamm,die spontan hypertensiv wurden,mehr Kallikrein im Urin ausscheiden,als die Kontrolltiere.
Nach Distler und Wolff (2o) stellen die Hypertonien der Ratten wahrscheinlich verschiedene polygenetische Formen dar.Je nachdem,welches Gen bei der selektiven Inzucht wirksam wird,kann die Kallikreinausscheidung hoch,normal oder niedrig sein.

Shkhvatsabaia et al. (65,66) berichteten 1973, dass die Kallikreinausscheidung von Patienten mit gering ausgeprägter essentieller Hypertonie, bzw.Borderline-Hypertonie erhöht wäre,während bei Patienten der Hypertonie vom Stadium II B und aufwärts die Kallikreinausscheidung erniedrigt wäre.Dies könnte zeigen,dass ähnlich wie bei den Tierversuchen von Geller,die Kallikreinwerte nicht von Anfang der Erkrankung erniedrigt sind,sondern dass dies erst im Verlauf eintritt.Ähnliche Beobachtungen machten zwei

andere Arbeitsgruppen.Nekrasova et al.(53) sowie Overlack (54) finden bei ihren labil essentiellen Hypertonikern normale Kallikreinausscheidung,während bei manifesten Hypertonikern eine erniedrigte Kallikreinausscheidung festgestellt wurde.

Holland (26) äusserte nach diesen Befunden die Vermutung,dass die erniedrigten Kallikreinwerte im Urin lediglich eine Folge der essentiellen Hypertonie wäre.Dies ergibt sich für ihn daraus, dass bei Patienten mit essentieller Hypertonie und normaler Nierenfunktion die gleiche Kallikreinausscheidung gefunden wurde wie bei normotensiven Kontrollen,während bei Patienten mit essentieller Hypertonie und eingeschränkter Nierenfunktion die Kallikreinausscheidung erniedrigt war.Miyashita bestätigte diese Befunde; er fand hinsichtlich der Kallikreinausscheidung zwei Gruppen: Normotonie und essentielle Hypertonien mit renalparenchymatöser Erkrankung mit verminderten Kallikreinwerten im Harn.

Einige Arbeitsgruppen sehen überhaupt keinen Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von Urinkallikrein und essentiellem Hochdruck.Lawton und Fitz (34) verglichen jüngere Männer mit milder essentieller Hypertonie mit altersglei-

chen Normotonien und fanden keinen Unterschied in der Kallikreinausscheidung zwischen beiden Gruppen.Diese Befunde stehen nicht im Widerspruch zu Holland,da diese jungen Patienten noch keine länger anhaltende manifeste Hypertonie hatten und somit ihre Kallikreinwerte noch im Normbereich lagen.Zschiedrich und Fleckenstein (84) konnten lediglich bei zwei von fünfzehn Patienten mit essentieller Hypertonie eine erniedrigte Kallikreinausscheidung beobachten.Alle anderen hatten im Vergleich zur normotonen Gruppe keine signifikanten Unterschiede aufzuweisen.Auch Horwith (27) et al. sowie Laragh (2o) stellten keine Unterschiede in der Kallikreinausscheidung zwischen Normo-und Hypertonien fest.Manche Arbeiten befassten sich mit den Zusammenhängen zwischen Natrium und Kallikrein in Bezug auf die essentielle Hypertonie.Levy (38) beobachtete,dass während einer erhöhten Natriumaufnahme die Kallikreinkonzentration im Harn bei normotonen Kontrollen höher lag als bei hypertonen Tieren.In der Periode der natriumarmen Diät hatten alle Gruppen höhere Kallikreinkonzentrationen im Harn als vorher.Unter längerfristiger Natriumrestriktion konnte Johnston (31) eine gesteigerte Kallikreinausscheidung nachweisen. Unter einer natriumreichen Diät ohne gleichzeitige Erhöhung der Wasserzufuhr konnte keine Veränderung der Kallikreinausscheidung beobachtet werden. Zschiedrich et al. (84) konnten zwischen Natrium- und Kallikreinausscheidung demgegenüber keine Beziehung nachweisen.

Die Literatur enthält zum Thema Kallikrein-ausscheidung bei Hypertonien sehr widersprüchliche Angaben.Nach einem Teil der Arbeiten ist die Kallikreinausscheidung im Harn bei essentiellen Hypertonien erniedrigt.Nach anderen Autoren ist dies nur der Fall,wenn die Nierenfunktion eingeschränkt ist.Die Deutung ist bei beiden Gruppen durch die ausserordentlich starke Streuung erschwert.Schliesslich wurde in verschiedenen Arbeiten die Verminderung der Kallikrein-ausscheidung erst nach längerem Bestehen des Hochdrucks beobachtet.Daraus könnte geschlossen werden,dass eine Verminderung der Kallikrein-ausscheidung im Harn eine Folge der Blutdrucksteigerung und nicht deren Ursache ist.

3. METHODIK UND MATERIAL

3.1.Methode der Harnuntersuchung

Im Zeitraum von 1972 bis 1976 wurde im Laboratorium für Hochdruckforschung von Wollheim und Mitarbeitern der 24-Stunden-Urin von 18o Patienten,die einen Hochdruck hatten,gesammelt.Die Patienten waren genauestens klinisch untersucht und sorgfältig nach der familiären Krankengeschichte befragt.Gleichzeitig wurde der Urin von 19 normotonen Kontrollen gesammelt.In den Familien dieser Normotonen gab es keine Hypertonien.Nach Sammlung des Urins wurden Volumen, spezifisches Gewicht und pH-Wert bestimmt.Der Harn wurde dann nach dem von Wollheim ausgearbeiteten Verfahren folgendermassen aufgearbeitet.Nachdem der Harn auf ein fünftel des ursprünglichen Volumens reduziert wurde,liess man den Harn zwanzig Stunden gegen fliessendes Wasser dialysieren. Nach der Dialyse wurde der Urin mit Aceton im Mengenverhältnis 2:1 versetzt,um dann die entstandenen Fällungsprodukte durch Zentrifugieren als Niederschlag zu gewinnen.Die wasserlöslichen Teile wurden gefriergetrocknet.Die gewonnene Substanz wurde auf eine 12o cm lange Gelchchromatographiesäule aufgetragen.Als Trägermedium wurde Sephadex G 5o fine,ein Dextrangel,verwendet,als Elutionsmittel o,1% Pyridin.Die Registrie-

rung erfolgte mit Licht von der Wellenlänge 28o nm über eine Messtrecke von 3 mm und mit einer Laufgeschwindigkeit des Papierbandes von lo mm pro Stunde. Im absteigenden Ast der ersten grossen Zacke findet sich bei Normotonen eine vasoaktive Substanz,während alle anderen Fraktionen keine Wirkung auf den Blutdruck des Kaninchens zeigen.Die Fraktion,die die vasoaktive Substanz enthielt,wurde weiter eingeengt,gefriergetrocknet und zur weiteren Reinigung auf eine Gelchromatographie,die als Trägersubstanz Biogel P lo,ein Polyacrylamidgel enthielt,aufgetragen. Die Elution und die Registrierung erfolgte auf dieselbe Art.Auch hier findet sich bei Normotonen die vasoaktive Substanz in der ersten Zacke.Diese Fraktion wird vasoaktive Fraktion A genannt.Die gleiche Fraktion ist bei Aufarbeiten der Harne primärer Hypertonien weniger wirksam oder unwirksam.

Um zu bestimmen,in wieweit Kallikrein einen Anteil an der blutdrucksenkenden Wirkung der Polypeptidfraktion A haben könnte,wurden o,ol mg der tiefgefrorenen Trockensubstanz jeweils in o,l ml Lösung gebracht und mit Hilfe der enzymatischen Methode auf sein Kallikreingehalt bestimmt.

3.2.Bestimmung der Kallikreinaktivität

3.2.1.Chemische Grundlagen zur Bestimmung des Kallikreins (68)

Das Prinzip der Bestimmung der Kallikreinaktivität beruht in der estergespaltenen Wirkung der Kallikreine auf das Benzoyl-L-argininäthyl-Ester (BAEE). Kallikrein spaltet Benzoyl-L-argininäthyl-Ester in Benzoyl-L-arginin und Äthanol.Äthanol und das Coenzym Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) werden mit Hilfe der Alkoholdehydrogenase (ADH) in Acetaldehyd und NAD + H^+ umgesetzt.Die pro Zeiteinheit umgesetzte Menge Äthanol,gemessen an der Zunahme der NADH-Extinktion bei 34o nm,ist ein Mass für die Kallikreinaktivität.

3.2.2.Vorbereitung der Messung

Mit Natronlauge wird ein Puffer bei 25°C auf ein pH von 8,7 eingestellt.Dabei muss besonders darauf geachtet werden,dass der eingestellte pH-Wert nicht weiter ansteigt,da dann ein Auskristallisieren des Natriums nicht ausbleibt. 34,8 mg BAEE werden in 15 ml destilliertes Wasser aufgelöst,ebenso 6o mg NAD in 3,o ml Wasser.1oo mg ADH-Suspension werden

in 3,4 ml Ammonium-sulfatlösung gelöst.Ein Zeiss-Spektralphotometer PMQ II mit Monochromator und temperierbarem Küvettenhalter wird auf 25°C eingestellt,die Wellenlänge auf 34o nm.Der Bestimmungsansatz in der Küvette für die zu messende Probe beträgt:

Puffer-Lösung	2,3o ml
NAD-Lösung	o,1o ml
ADH-Suspension	o,o2 ml
BAEE-Lösung	o,5o ml

Zum Leerwertansatz müssen noch o,1o ml Puffer-Lösung als Volumenausgleich hinzugegeben werden.

3.2.3.Durchführung der Messung

Der Bestimmungsansatz wird in eine Küvette mit der Schichtdicke von 1 cm pipettiert,gemischt und 5 Minuten lang in ein 25°C temperiertes Wasserbad gestellt.Mit Beginn der Messung wird die Extinktion E_1 gegen den Leerwert abgelesen,die zu messende Probe von o,1 ml in die Küvette pipettiert und die genaue Zeit wird gestoppt. Nach genau 1o Minuten wird die Extinktion E_1 des Leerwertes und die Extinktion E_2 der zu messenden Probe abgelesen.Die Extinktionszunahme E/min soll nicht grösser sein als o,o3o/min, andernfalls muss die Probe verdünnt werden.

3.2.4. Berechnung

Bei einem Küvettenvolumen von 3,o ml Inhalt entspricht 1 mU Kallikreinaktivität einer Extinktionsänderung von o,ooll E/min.E wird aus der Differenz von E_2 und E_1 plus E_L berechnet.($E = E_2 - E_1 - E_L$). Es ergibt sich die Berechnungsformel für die zu bestimmende Kallikreinkonzentration.Die Extinktionsänderung pro Minute wird durch o,oll dividiert.Der Verdünnungsfaktor muss mitberücksichtigt werden.

3.2.5.Umrechnung in andere Einheiten

In der Literatur wird weitgehend die internationale Einheit Units/Liter benutzt,dies hauptsächlich aus dem Grund,weil U/L exakt photometrisch bestimmt werden kann.Aussagefähiger,jedoch weitaus schwieriger zu bestimmen,wäre ein Vergleich mit der biologischen Einheit KE,mit biologischen Messmethoden zu erfassen.Eine Kallikrein Einheit (KE) ist die Menge,die bei intravenöser Injektion an der Carotis-Druckkurve eines Hundes dieselbe blutdrucksenkende Wirkung hervorruft,wie 5 ml Menschenharn,die einer Sammelprobe von 5o Litern entnommen und 24 Stunden gegen fliessendes Wasser dialysiert wurden.Es hat sich herausgestellt,dass die Fehlerbreite bei der Bestimmung der Aktivität mit biologischen Messmethoden,wie zum Beispiel

die direkte Messung der blutdrucksenkenden Wirkung von Kallikrein,in nicht rein definierter Form zu gross ist,und dadurch nur einen ungefähren Vergleich zulässt.Demnach entspricht 1 biologische Einheit KE o,1 - o,3 U.Um dies zu überprüfen,haben wir reines Schweinepankreaskallikrein in einer Verdünnungsreihe photometrisch bestimmt.Die Firma Bayer teilte uns mit,dass ein mg Kallikrein 1 18o KE entsprach.Bei den verschiedenen Verdünnungsreihen wurden für 1 KE zwischen o,19 und o,23 U bestimmt.

3.2.6.Fehlerquellen

Es gibt eine Reihe von Hydrolasen (z.B.Trypsin, Plasmin,Esterasen),die Benzoyl-L-argininäthyl-Ester hydrolytisch spalten können.Da wir nicht mit Sicherheit sagen können,ob bei dem heutigen Wissensstand die Proben von diesen Stoffen weitgehend befreit sind,ist die Spezifität bei der angegebenen Methode zur Bestimmung der Kallikreinaktivität nicht voll gewährleistet.
Bei der Durchführung der Messungen haben wir versucht,messtechnische Fehler weitgehend zu vermeiden. Um die Reproduzierbarkeit der Methode zu beweisen, wurden von 159 Kallikreinbestimmungen mit neuen Bestimmungsansätzen an verschiedenen Tagen 42 Doppelbestimmungen durchgeführt.Die grösste Abweichung lag bei 17%. 8 Messungen zeigten keine Abweichung von der ersten Messung.Im Durchschnitt lag die Ab-

weichung bei 10%.Für enzymatische Messmethoden sind solche Abweichungen nicht ungewöhnlich.

3.3.Untersuchte Kontrollen und Patientengruppen

Es wurde die Kallikreinaktivität in der Polypeptidfraktion A von 19 gesunden Probanden bestimmt. Bei diesen Personen,die als Kontrollgruppe dienten, waren in den Familien keine Hochdruckkrankheiten bekannt.Weiterhin wurde von 85 Patienten mit Hypertonien die Kallikreinaktivität in der Polypeptidfraktion A bestimmt.Wie Tabelle 1 zeigt,hatten 54 Patienten eine essentielle Hypertonie.In allen Fällen konnte eine familiäre Belastung nachgewiesen werden.Die Diagnose der essentiellen Hypertonie wurde nach den üblichen klinischen Gesichtspunkten gestellt.

Von den 31 Patienten,die an einer sekundären Hypertonie erkrankt waren,hatten 25 eine renalparenchymatöse Erkrankung, 3 eine endokrine (1 Phäochromocytom mit Nebennierenmarktumor, 2 primäre Hyperaldosteronismen) und weitere 3 Patientinnen hatten langjährige Antikonzeptivaeinnahmen in der Anamnese.

	Anzahl der Fälle	Alter Jahre	$\bar{x}$	Geschlecht männl.	weibl.	Gewicht $\bar{x}$ (KG)
normotone Kontrollen	19	9-66	28.3	lo	9	67,3
primäre Hypertonien	54	19-78	43,3	27	27	73,5
sekundäre Hypertonien	31	24-7o	45,6	16	15	77,5

Tab. 1. Charakterisierung der Patientengruppen

4. E R G E B N I S S E

4.1. Blutdrucksenkung der vasoaktiven Polypeptidfraktion.

Aus 291 Proben, gewonnen aus dem Urin von 19 Probanden, hatten Wollheim und Mitarbeiter (81) für die mittlere Blutdrucksenkung im Bioassay einen Wert von 33,8% $\pm$ o,6% vom Ausgangswert ermittelt. Zur Kallikreinbestimmung wurden aus dieser Gruppe 74 Proben entnommen. Bei der Testung dieser Fraktion hatten alle Substanzen im Tierversuch einen blutdrucksenkenden Effekt. Wie Tabelle 2 zeigt, betrug die Senkung für den mittleren Blutdruck 22 bis 57% vom Ausgangswert für mindestens drei Minuten. Der Mittelwert lag für diese Gruppe bei 36,7%.

Die von Wollheim und Mitarbeitern (81) durchgeführte Untersuchung bei 76 essentiellen Hypertonien ergab im Tierversuch eine mittlere Senkung von 8,8% $\pm$ 1,2% gegenüber dem Ausgangswert. Aus dieser Gruppe wurden 54 Proben entnommen (s. Tab. 2). Im Bioassay wurde bei 32 Fällen keine Blutdrucksenkung registriert. Bei den übrigen 22 Präparationen dieser Gruppe wurde eine Blutdrucksenkung von 12 bis 3o% gefunden. Der

Mittelwert dieser kleineren Gruppe lag bei 7,5%.
In der Gruppe der sekundären Hypertonien ergab sich im Bioassay in der Studie von Wollheim und Mitarbeitern (81) in 71 Fällen eine Senkung von 33,4% $\pm$ 1,o% gegenüber dem Ausgangswert.Aus dieser Gruppe wurde bei 31 Proben eine Kallikrein-bestimmung durchgeführt (s.Tab.2).Es ergab sich im Tierversuch nur bei einem Fall keine Senkung, im übrigen wurden Werte zwischen 21 und 5o% ermittelt.Der Mittelwert dieser kleineren Gruppe ist 32% gegenüber dem Ausgangswert.

4.2.Kallikreinwerte in der vasoaktiven Polypeptidfraktion A

Abbildung 1 zeigt die Einzelwerte des Kallikreins in den drei untersuchten Gruppen.Die Kallikreinaktivität,bestimmt in der vorher im Tierversuch getesteten vasoaktiven Polypeptidfraktion A,ergab bei den normotonen Kontrollen folgende Werte: Die geringste Kallikreinmenge betrug o,1 mU/o,ol mg der Trockensubstanz, die höchste Kallikreinmenge 5,32 mU/o,ol mg der Trockensubstanz.Zurückgerechnet auf die Ausgangsharnmenge und auf das Gewicht bei der Gelchromatographie (Biogel P lo) gewonnenen Polypeptidfraktion kann man auch Units/Liter (U/L) bestimmen.So beträgt die geringste Kallikreinaktivität o,o7 U/L,die höchste 17,64 U/L. Der arithmetische Mittelwert der 74 bestimmten Proben beträgt 4,o U/L.
Wie in Abbildung 1 dargestellt,verhielt sich die Gruppe der primären Hypertonien anders. In fünf Proben war die Kallikreinaktivität nicht mehr messbar.Die höchste Kallikreinmenge betrug 1,94 mU/o,ol mg Trockensubstanz,dies entspricht5,o3 U/L der Ausgangsharnmenge.Der arithmetische Mittelwert der 54 bestimmten Proben beträgt o,82 U/L (s.a.Tab.2).Ähnlich wie die Normotonen verhielt sich die Gruppe der sekundären Hypertonien.Die niedrigste Kallikreinaktivität war mit o,16 mU/o,ol mg Trockensubstanz

bzw.o,35 U/L geringfügig höher als die niedrigsten Werte der Kontrollgruppe.Auch die höchsten Kallikreinaktivitäten sind mit 5,45 mU/o,o1 mg Trockensubstanz,bzw.7,7 U/L der Ausgangsharnmenge mit der normotonen Gruppe vergleichbar.Der arithmetische Mittelwert der 31 gemessenen Proben beträgt 2.32 U/L (s.Abb.1).

L KALLIKREIN

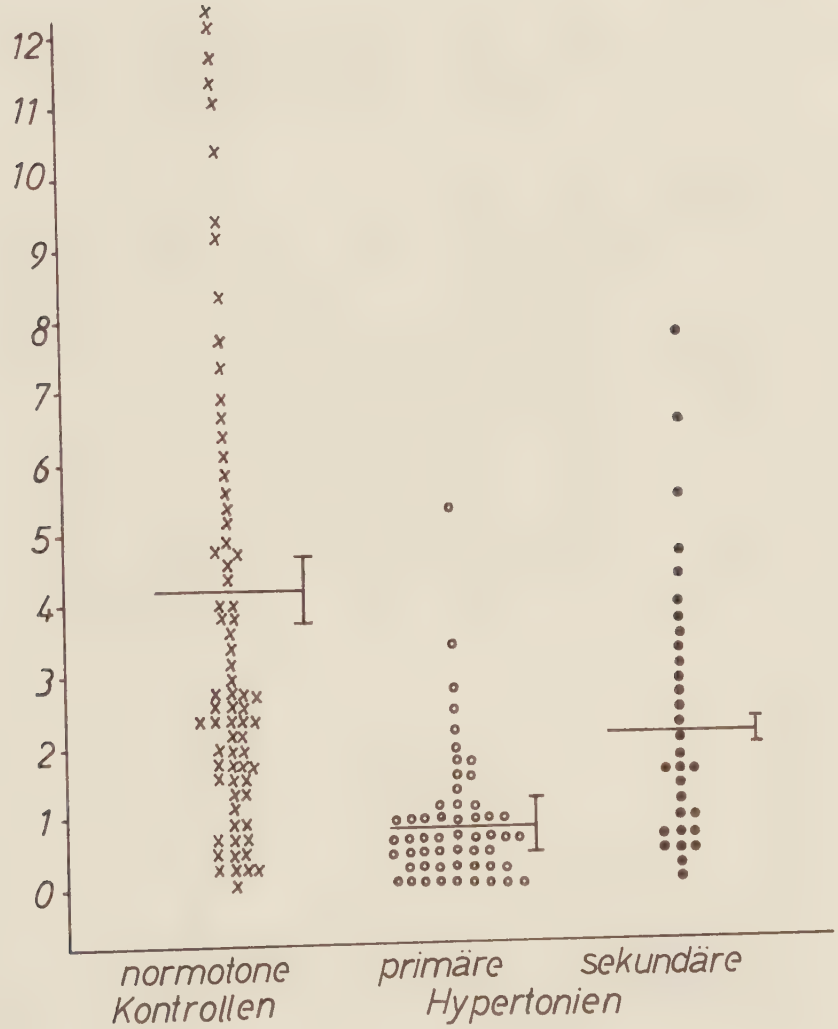

Abb. 1. Kallikreinaktivität in der Polypeptid-fraktion A der normotonen Kontrollen, der primären Hypertonien und sekundären Hypertonien.

	Anzahl der Proben	Blutdrucksenkung %	Blutdrucksenkung i.m.	Kallikreingehalt U/L	Kallikreingehalt i.m.	Standardabweichung s	mittlerer Fehler $s_{\bar{x}}$	Korrelationskoeffizient r
normotone Kontrollen	74	22–57	36,7	0,07–17,64	4,1	3,89	0,44	0,36
primäre Hypertonien	54	0–30	7,5	0–5,03	0,82	0,93	0,39	0,07
sekundäre Hypertonien	31	0–50	32	0,35–7,7	2,32	1,95	0,12	0,39

Tab. 2. Anzahl der Proben, Blutdrucksenkung im Tierversuch, Kallikreingehalt in der Polypeptidfraktion A, Standardabweichung, mittlerer Fehler des Mittelwertes und Korrelationskoeffizient in den untersuchten Gruppen.

4.3. Zusammenhänge zwischen Kallikreinkonzentration in der vasoaktiven Fraktion und Blutdrucksenkung im Tierversuch

Die Abbildungen 2,3 und 4 zeigen die Korrelation zwischen Blutdrucksenkung im Tierversuch und gefundenen Kallikreinwerten für die Normotonen, sekundären und primären Hypertonien.In keiner der untersuchten Gruppen kann eine Korrelation gefunden werden.Einige Substanzen,die keinerlei Kallikreinaktivität aufwiesen,hatten im Tierversuch erhebliche Blutdrucksenkungen bewirkt, was besonders bei den Abbildungen 2 und 3 ersichtlich ist.Andere Substanzen mit höherer Kallikreinkonzentration bewirkten im Bioassay keine Blutdrucksenkung.

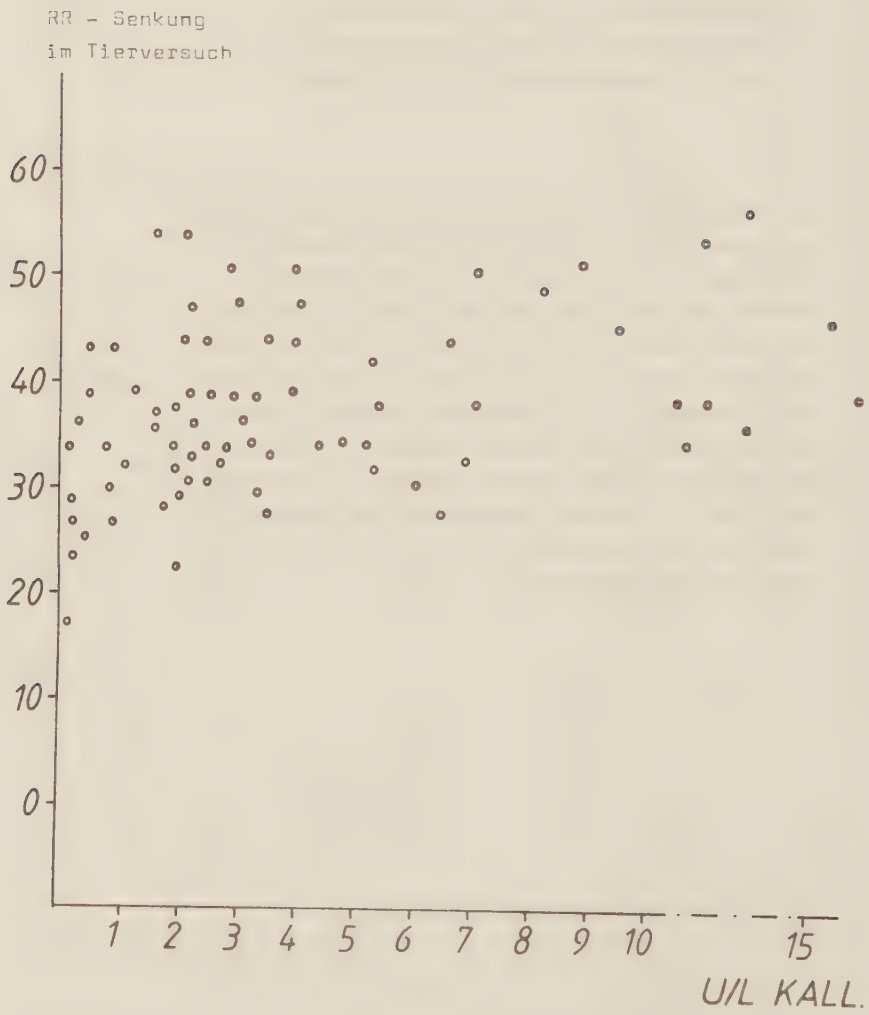

Abb. 2. Korrelation zwischen der Blutdrucksenkung im Tierversuch und der Kallikreinaktivität in der Polypeptidfraktion bei den normotonen Kontrollen.

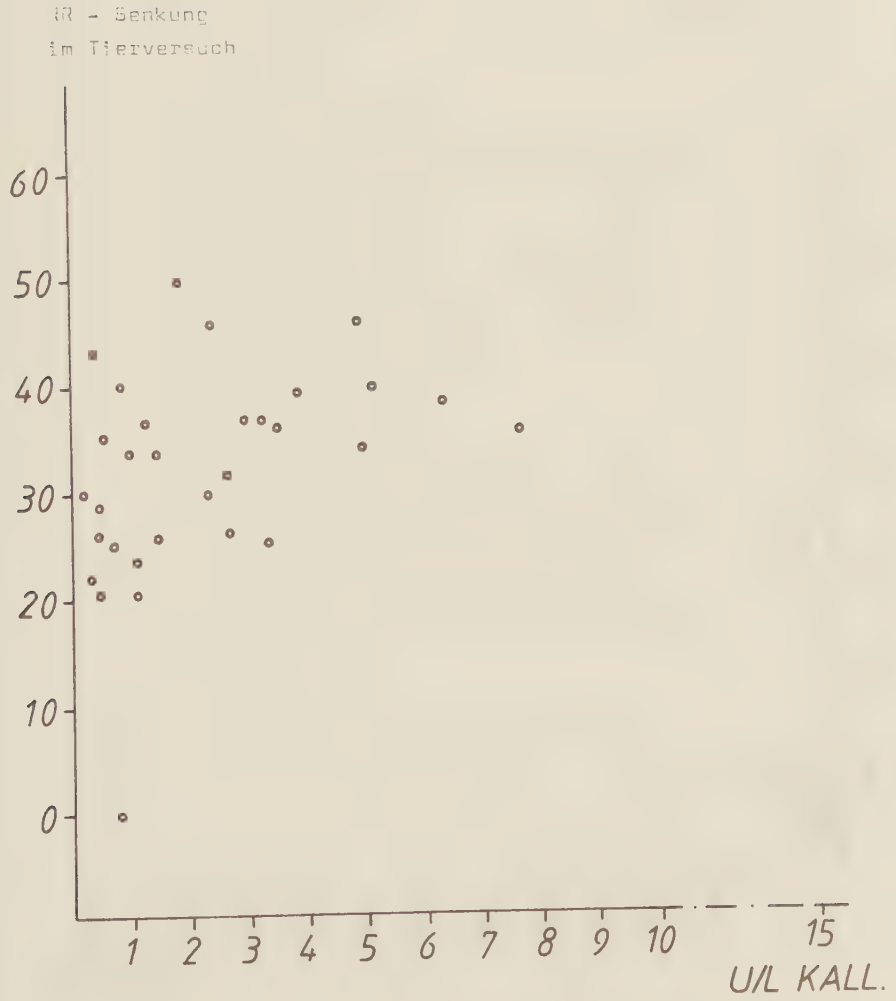

Abb. 3. Korrelation zwischen der Blutdrucksenkung im Tierversuch und der Kallikreinaktivität in der Polypeptidfraktion in der Gruppe der sekundären Hypertonien.

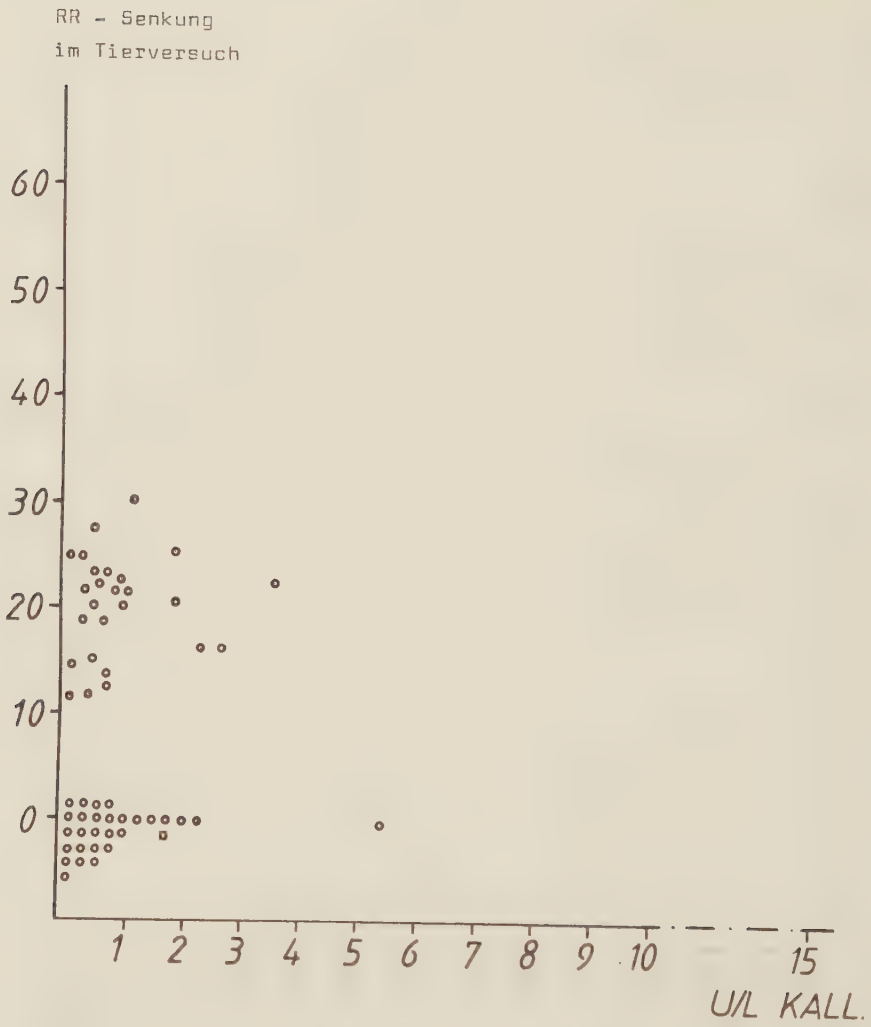

Abb. 4. Korrelation zwischen der Blutdrucksenkung im Tierversuch und der Kallikreinaktivität in der Polypeptidfraktion in der Gruppe der primären Hypertonien.

4.4.Statistische Auswertung

Nach der Berechnung des arithmetischen Mittelwertes (x) der gemessenen Kallikreinwerte wurde für jede Gruppe die Stichproben-Standardabweichung (s) und der mittleren Fehler des Mittelwertes (s_x) bestimmt.Um einen Zusammenhang zwischen Kallikreinaktivität in der vasoaktiven Fraktion und der Blutdrucksenkung im Tierversuch zu erfassen,wurde der Korrelationskoeffizient (r) errechnet.
Der arithmetische Mittelwert der 74 bestimmten Proben der normotonen Kontrollgruppen beträgt $\bar{x}$ = 4,1o U/L mit einer Standardabweichung von s = 3,89 bei einem mittleren Fehler des Mittelwertes von s_x= o,44.Bei einer durchschnittlichen Blutdrucksenkung im Tierversuch von 36,7% ergibt sich für den Korrelationsfaktor der Wert von r = o,36.
Die Kallikreinaktivität in der vasoaktiven Substanz beträgt in der Gruppe der primären Hypertonien im Durchschnitt $\bar{x}$ = o,82 U/L mit einer Standardabweichung von s = o,93 und einem mittleren Fehler des Mittelwertes von s = o,39.Der Korrelationsfaktor der Kallikreinaktivität und der Blutdrucksenkung,bei einer durchschnittlichen Senkung im Tierversuch von 7,55% ist r = o,o7.
In der Gruppe der sekundären Hypertonien beträgt der arithmetische Mittelwert von den 31 bestimm-

ten Proben $\bar{x}$ = 2,32 U/L mit einer Standardabweichung von s = 1,95 bei einem mittleren Fehler des Mittelwertes von s_x = o,12.Die durchschnittliche Blutdrucksenkung ist 32%. Der Korrelationskoeffizient der Kallikreinaktivität und der Blutdrucksenkung beträgt r = o,39.

5. D I S K U S S I O N

Aufgabe dieser Arbeit war es zu prüfen,ob Kallikrein einen Anteil an der von Wollheim und Mitarbeiter gefundenen bei normotonen vasoaktiven Polypeptidfraktion hat.

In zahlreichen Arbeiten wurde Kallikrein in Bezug zur essentiellen Hypertonie erwähnt.Es wurden hierbei sehr unterschiedliche Befunde erhoben. Einige Arbeiten (1,39,4o,64,82) zeigten,dass die im Harn gemessenen Kallikreinwerte bei der essentiellen Hypertonie in vielen Fällen deutlich erniedrigt waren.Es wurde angenommen,dass ein erniedrigter Kallikreinwert für den erhöhten Blutdruck verantwortlich sein könnte.Da die erwähnten Ergebnisse sich meistens auf Mittelwerte bezogen und eine grosse Streuung der Einzelwerte auffiel,erschwerte dies die Deutung der Befunde.

Einige Arbeitsgruppen (2o,27,34) sahen keinen Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von Urinkallikrein und essentieller Hypertonie.Die erniedrigten Kallikreinwerte wurden nur bei Hypertonien mit gleichzeitig eingeschränkter Nierenfunktion gemessen.Eine Untersuchung (84) zeigte gleiche Kallikreinausscheidung im Harn bei essentiellen Hypertonien und normotonen Kontrollpersonen.

Manche Autoren (18,26,57) deuten die verminderte Kallikreinausscheidung bei der essentiellen Hypertonie

als Folge der Erkrankung.Sie konnten nur bei lang anhaltender Krankheitsdauer eine Abnahme der Kallikreinausscheidung im Urin messen.

Es zeigte sich weiterhin,dass bei der Untersuchung des Kallikreins in verschiedenen Organen sehr unterschiedliche Konzentrationen gefunden wurden (2o,53,7o).So wiesen Heidland und Röckel (6o,61) nach,dass die Kallikreinkonzentration im Parotisspeichel bei essentiellen Hypertonien gegenüber Normotonen erhöht ist,während die Natriumkonzentration abnimmt.Renale Hypertonien (Pcreat $<$ 3mg/dl) hatten eine normale Kallikreinkonzentration im Parotisspeichel,während bei Patienten mit Hypertonie sowie Kranke mit haemodialysepflichtiger fortgeschrittener Niereninsuffizienz eine erhöhte Kallikreinkonzentration bestand.Heidland und Röckel ziehen daraus die Schlussfolgerung,dass der erhöhte Kallikreingehalt im Speichel als Gegenregulation auf den erhöhten Blutdruck gesehen werden muss.

Weiterhin wäre noch zu erwähnen,dass verschiedene Faktoren die Kallikreinkonzentration im Harn stark beeinflussen.Die Kallikreinkonzentration fällt mit Abnahme des renalen Blutstromes ab (18,37,52), ebenso nach Aufnahme einer grösseren Kochsalzmenge (19,38).Die Kallikreinkonzentration im Harn steigt bei ständiger Aufnahme von Mineralcorticoiden an (42,43).Eine Infusion von Prostaglandin E_1 (3o,46), ebenso eine strenge salzarme Diät lässt die Konzentration von Kallikrein im Harn steigen (38).Die Wirkung von Angiotensin II ist dosisabhängig.Grössere Mengen von Angiotensin II bewirken mit dem

gleichzeitigen Anstieg des Blutdrucks eine Erhöhung der Konzentration von Kallikrein und Kochsalz im Harn,kleinere Mengen (1 ug/kg/min) eine Verminderung der Kallikreinausscheidung (33).

Insgesamt sind die Mechanismen,die das renale Kallikrein-Kinin-System beeinflussen,noch weitgehend ungeklärt.Hierdurch wird die Beurteilung des erniedrigten Harnkallikreins in der Pathogenese der Hypertonie zusätzlich erschwert.

Die eigenen Befunde zeigen ebenfalls erniedrigte Kallikreinmengen in der Gruppe der essentiellen Hypertonien.Die gemessenen Kallikreinkonzentrationen in der Gruppe der Normotonen lag mit 4,o U/L höher als bei den essentiellen Hypertonien mit o,82 U/L.Quantitativ liegen diese Werte deutlich niedriger als die Ergebnisse anderer in der Literatur zitierte Arbeiten,da die Bestimmung der Aktivität nicht im Gesamtharn,sondern in der isolierten Polypeptidfraktion bestimmt wurde.Die gefundenen Kallikreinmengen reichen nicht aus,um eine Blutdrucksenkung im Tierversuch zu erreichen.Um eine Blutdrucksenkung von mindestens 2o% des Ausgangswertes über eine Dauer von drei Minuten zu erhalten,musste im Tierversuch eine Dosis von o,2 U (1 KE) gereinigtes Schweinepankreaskallikrein intravenös verabreicht werden. Diese Menge von Kallikrein wurde in keiner der getesteten vasoaktiven Fraktionen gefunden.Der höchste ermittelte Kallikreinwert in der vasoaktiven Fraktion A lag bei 5,32 mU.Werden 5,32 mU (o,oo53 U) eines Schweinepankreaskallikreins

appliziert,zeigen sich keine Wirkungen im Tierversuch.Weder Blutdruck noch Herzfrequenz ändern sich messbar.Alle getesteten vasoaktiven Fraktionen enthielten Kallikreinmengen,die im Tierversuch keine Blutdrucksenkung hervorrufen können. Trotzdem wurde mit der vasoaktiven Fraktion A, die die geringe Menge von 5,32 mU Kallikrein enthielt,eine Blutdrucksenkung von 32% über fünf Minuten erreicht.Alle getesteten vasoaktiven Fraktionen zeigten in der Gruppe der normotonen Probanden einen deutlichen Effekt auf den Blutdruck.Selbst diejenigen Proben,die nicht mehr messbare Kallikreinmengen enthielten,führten zur deutlichen Blutdrucksenkung im Tierversuch.Die deutliche Blutdrucksenkung zeigt,dass dies nicht auf die Kallikreinaktivität zurückzuführen ist. Um die beschriebene Wirkung zu erreichen,wäre demnach mindestens die 4o-fache Kallikreinmenge notwendig gewesen,da wie gezeigt,mindestens O,2 U Kallikrein notwendig sind,um eine kurzzeitige Blutdrucksenkung zu erhalten.

Wie im Abschnitt 4.3.gezeigt,konnten zwischen den in o,1 mg der Trockensubstanz gemessenen Kallikreinkonzentrationen in der vasoaktiven Fraktion A und der Blutdrucksenkung im Tierversuch kein Zusammenhang gefunden werden.In keiner der untersuchten Gruppen kann eine eindeutige Korrelation zwischen der Vasoaktivität der Polypeptidfraktion und der Kallikreinmenge ermittelt werden.

Aus diesen Ergebnissen geht hervor,dass die verschiedenen Kallikreinbeimengungen,die in der Polypeptidfraktion von Wollheim und Mitarbeiter gefunden wurden,für die im Bioassay nachgewiesene Blutdrucksenkung nicht verantwortlich sind.Die in der vasoaktiven Fraktion A gefundenen Kallikreinmengen liegen weit unterhalb der für eine Blutdrucksenkung notwendigen Mengen.

6. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Von 18o Patienten,die einen arteriellen Hochdruck hatten,und von 19 normotonen Kontrollen wurde der Urin gesammelt.Aus dem Urin wurde nach einem von Wollheim und Mitarbeiter entwickelten Verfahren eine Polypeptidfraktion gewonnen und auf ihre Vasoaktivität geprüft.Alle Proben aus der normotonen Gruppe zeigten im Tierversuch eine deutliche Blutdrucksenkung,die Proben der essentiellen Hypertonien erreichten keine oder nur geringe Blutdrucksenkungen.

2. Die Menge von o,ol mg der tiefgefrorenen Trokkensubstanz wurde in o,1 ml Lösung gebracht und auf ihre Kallikreinaktivität hin untersucht. In o,1 mg der vasoaktiven Fraktion A befand sich durchschnittlich 4,1 mU Kallikrein.Um eine Blutdrucksenkung im Tierversuch zu erreichen,wären mindestens 2oo mU gereinigtes Schweinepankreaskallikrein erforderlich.In keiner der getesteten Substanzen fand sich eine ausreichende Menge Kallikrein,um eine Blutdrucksenkung hervorzurufen.

3. Zwischen der Kallikreinkonzentration in der Polypeptidfraktion und der Blutdrucksenkung im Tierversuch konnte in keiner Gruppe eine Korrelation festgestellt werden.

4. Aus diesen Ergebnissen geht hervor,dass die Kallikreinbeimengungen in der vasoaktiven Fraktion A für die im Tierversuch nachgewiesene Blutdrucksenkung nicht verantwortlich sein können.

Meinem Doktorvater,dem hochverehrten
em.Professor Dr.med.E.Wollheim danke ich für
die freundliche Überlassung des Dissertations-
themas sowie für seine stete Hilfsbereitschaft
bei allen Fragen während der Arbeit.
Mit tiefstem Bedauern musste ich den Tod
meines verehrten Lehrers Professor Wollheim
zur Kenntnis nehmen (verstorben am 2.8.1981).

Für die Übernahme des Referates und Hilfe bei
der endgültigen Fertigstellung der Arbeit
danke ich Herrn Professor Dr.med.A.Heidland.

Für die Übernahme des Korreferates danke ich
Herrn Professor Dr.med.K.Kochsiek.

Mein Dank gilt auch Frau S.Peterknecht und
Herrn Ch.Dees für ihre Unterstützung bei
der chemischen Aufarbeitung der Harne und
bei den Tierversuchen.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1) Abe,K.,Seino,M.,Sakurai,Y.,Kokawa N.,
Miyazaki,S.,Yasujima,M.,Chiba,S.,
Saito,K.,Otsuka,Y.,Yoshinaga,K.:
Studies on urinary kallikrein and kinin
in essential hypertension
Nippon Naika Gakki,Zasshi, 67 (5)
483-494 (1978)

2) Adetuyibi,A.,Mills,I.H.:
Relation between urinary kallikrein and
renal function,hypertension and excre-
tion of sodium and water in man.Lancet 2,
2o3-2o7 (1972)

3) Amundsen,E.,Pütter,J.,Friberger,P.,Knös,M.,
Larsbraten,M.,und Claeson,G.:
Methods for the determination of glandu-
lar kallikreins by means of a chromogenic
iripeptide substrate in Fujiis,Morya and
Suzuki,Proc.Int.Symp.on Kinins,
II,Tokyo (1978)

4) Arnold,M.:Untersuchungen zur Früherkennung
der essentiellen Hypertonie.Dissertation
Würzburg, 1978.

5) Arrigoni-Martelli,E.,Nielsen C.K.:
Urinary kallikrein excretion in normotensive and spontaneously hypertensive rats.
Acta Pharmacol.Toxicol.(Kbh.) 37,
177-184 (1975)

6) Bevan,D.R.,Macfarlane,N.A.A.,and Mills,I.H.:
The dependence of urinary kallikrein excretion on renal artery pressure.
J.Physiol.Lond.241,
34-35 (1974)

7) Birchall,R.and Birchall,J.:
Renal artery stenosis then and now.
Southern Med.Journal Vol 68, No.9
1109-1115 (1975)

8) Bock,K.D.:
Hochdruck 2.Auflage,Thieme Verlag 1975

9) Bönner,G.,Rascher,W.,Marin Grez M.,
Gross,F.:
Kallikreinaktivität im Urin von Ratten mit renovaskulärer Hypertonie.Symposion on Hypertension,Mainz,Oct. 1979

10) Bono,E.de and Mills,I.H.:
Simultaneous increases in kallikrein in renal lymph and urine during saline infusion.J.Physiol.,Lond.241
127-128 (1974)

11) Bülow,D.:
Untersuchungen zur Erkennung der genetischen Anlage des essentiellen Hochdrucks.
Dissertation Würzburg,1979

12)Bülow,G.:
Versuch einer Früherkennung der essentiellen Hypertonie im Stadium der Latenz.
Dissertation Würzburg, 1979

13) Carretero,O.A.and Scicli,A.G.:
Renal vasodepressor hormones:The kallikrein-kinin and prostaglandin systems.
Symposion on Hypertension,Mainz,Oct. 1979

14) Carretero,O.A., u.Scicli,A.G.:
Renal kallikrein : its localization and possible role in renal function
Federation Proc.35, No.2:
194-198 (1976)

15) Carretero,O.A.,Scicli,A.G.:
The renal kallikrein-kinin-system in human and in experimental hypertension.
Klin.Wschr.56 (Suppl.I)
113-125 (1978)

16) Carretero,O.A.,Scicli,A.G.,Piwouska,A.,
Koch,J.:
Urinary kallikrein in rats bred for susceptibility and resistance to the hypertensive effect of salt and in New Zealand genetically hypertensive rats.
Mayo Clin.Proc.Vol.52:
465-467 (1977)

17) Chernova,N.A.,Nekrasova,A.A.:
Urinary kallikrein in hypertension and renovascular hypertension.
Kardiologia 11 (4)
84-89 (1971)

18) Croxatto,H.R.:
Kidney and the kallikrein-kinin-system.
Medicina (Buenos Aires) 32,Suppl.1,
18-29 (1973)

19) Croxatto,H.R.,Albertini,R.,Arriagada,R.
Roblero,J.,Rojas,M.,u.Rosas,R.:
Renal urinary kallikrein in normotensive and hypertensive rats during enhanced excretion of water and elektrolytes.
Clinical Science and Molecular Medicine 51,
259-261 (1976)

2o) Distler,A.,und Wolff,H.P.:
Renales Kallikrein-Kinin-System und Blutdruckregulation.
Klin.Wschr.57,
1o37-1o45 (1979)

21) Eichler,O.,Farah,A.,Herken,H.,Welch,A.D.:
Bradykinin,Kallidin and Kallikrein.
Handbook of Experimental Pharmacology
Vol.XXV.Springer Verlag Berlin,Heidel-
berg,New York 197o

22) Elliot,A.H.,Nuzum,F.R.:
The urinary excretion of a depressor
substance (Kallikrein of Frey and Kraut)
in arterial hypertension.Endocrinology 18,
462-474 (1934)

23) Geiger,R.,Stuckstedte,U.,Förg-Brey,B.,
Fink,E.:
Human urinary kallikrein.Biochemical
and physiological aspects.Advances in
Experimental Medicine and Biology Vol.
12o A,
235-244 (1979)

24) Geller,R.G.,Margolius,H.S.,Pisano,J.J.,
and Keiser,H.R.:
Urinary kallikrein excretion in spontane-
ously hypertensive rats.Circulation
Research,Vol.35,
1o3-1o6 (1975)

25) Greco,A.V.,Porcelli,G.,Croatto,H.R.,
Fedeli,G.,Ghirlanda,G.:
Arteriel hypertension and urinary kalli-
krein,Minerva Med.65,
3o58-3o62 (1974)

26) Holland,O.B.,Chud,J.M.,Braunstein,H.:
Urinary kallikrein excretion in essential and mineralocorticoid hypertension.
J.Clin.Invest. 65(2),
347-356 (198o)

27)Horwith,D.,Margolius,H.S.,Keiser,H.R.:
Effects of dietary potassium and race on urinary excretion of kallikrein and aldosterone in man.
J.Clin.Endocrinol.Metab.47,
296-299 (1978)

28) Izzo,J.L.:
Urinary kallikrein levels and hypertension.New Engl.J.Med.299 (23),
1316-1317 (1979)

29) Jenner,S.,Croxatto,H.:
Urinary kallikrein from normal and hypertensive rats.Experientia 29 (11)
1359-1361 (1974)

3o) Johnston,H.H.,Herzog,J.P.,and Lauler,D.P.:
Effect of PGE_1 on renal hemodynamics sodium and water excretion.Am.J.Physiol.
213,
939-946 (1967)

31) Johnston,C.I.,Matthews,P.G.,Dax,E.:
Renin-angiotensin and kallikrein-kinin-systems in sodium homeostasis and hypertension in rats.Clin.Sci.Mol.Med.51,
283-286 (1976)

32) Keiser,H.R.,Geller,R.G.,Margolius,H.S.
Pisano,J.J.:
Urinary kallikrein in hypertensive animal models.
Federation Proc.35,No.2:
199-2o2.1976

33) Klein,G.L.,Mills,I.H.and Wilson,R.J.:
Changes in renal function associated with the development of resistance of the renal vasculature to the arterial infusion of angiotensin.
J.Physiol.,Lond.215,
43-44 (1971)

34) Lawton,W.J.,Fitz,A.E.:
Urinary kallikrein in normal renin essential hypertension.
Circulation Vol.56.No.5,
856-859 (1977)

35) Lechi,A.,Covi,G.,Lechi,C.,Corgnati,A.,Arosio,E.,
Zatti,M.,Scuro,L.A.:
Urinary kallikrein excretion and plasma renin activity in patients with essential hypertension and primary aldosteronism.
Clin.Sci.Med.55,
51-55 (1978)

36) Lechi,C.,Rasi,G.,Covi,G.,Arasio,E.,Zamuni,G.,
and Lechi,A.:
Urinary and kidney kallikrein in hypertensive rats.
Biomedicine 25,
236-238 (1976)

37) Levy,S.B.,Lilley,J.J.,Frigon R.P.,
and Stone,R.A.:
Urinary kallikrein and plasma renin
activity as determinats of renal blood
flow.
J.Clin.Invest.Vol.6o
129-138 (1977)

38) Levy,S.B.,Frigon,R.P.,Stone,R.A.:
The relationship of urinary kallikrein
activity to renal salt and water excre-
tion.
Clin.Sci.Mol.Med.54,
39-45 (1978)

39) Margolius,H.S.,Geller,R.,Pisano,J.J.,
Sjoerdsma,A.:
Altered urinary kallikrein excretion in
human hypertension.Lancet 2,
1o63-1o65 (1971)

4o) Margolius,H.S.,Geller,R.G.,De Jong,W.,
Pisano,J.J.,Sjoerdsma,A.:
Urinary kallikrein excretion in hyper-
tension.Circ.Res.31,Suppl.2,
125-131 (1972)

41) Margolius,H.S.,Geller,R.,De Jong,W.,
Pisano,J.J.,Sjoerdsma,A,:
Altered urinary kallikrein excretion in
rats with hypertension.Circ.Res.3o (3)
358-362 (1972)

42) Margolius,H.S.,Horwitz,D.,Pisano,J.J.,
Keiser,H.R.:
Relationship among urinary kallikrein,
mineralocorticoids and human hypertensive
disease.
Federation Proc.35,No.2,
2o3-2o6 (1976)

43) Marin-Grez,M.,Oza,N.B.,Carretero,O.A.:
The involvment of urinary kallikrein
in the renal escape from the sodium re-
taining effect of mineralocorticoids.
Henry Ford Hosp.Med. J 21,
85-9o (1973)

44) Mc Caa,R.E.,Hall,J.E.,Mc Caa,C.S.:
Role of the renal renin angiotensin
and kallikrein-kinin-system.
Circ.Res.43 (Suppl.I)
132-139 (1978)

45) Mills,I.H.,Macfarlane,N.A.A.,Ward,P.E.
and Obika,L.F.:
The renal kallikrein-kinin-system
and the regulation of salt and water
excretion.Federation Proc.35,
181-188 (1976)

46) Mills,I.H. and Obika.L.F.O.:
Increased urinary kallikrein excretion during prostaglandin E_1 infusion in anaesthetized dogs and its relation to natriuresis and diuresis.
J.Physiol.Lond.273,
459-474 (1977)

47) Mills,I.H.:
Kallikrein,kininogen and kinins in control of blood pressure.
Nephron 32,
61-71 (1979)

48) Mimran,A.,Baudin,G.,Casellas,D.,Wahba,W.K.:
Kallicréine urinaire et hypertension rénovasculaire chez le rat.
Journal Urol.Nephrol.(Paris) 83,
901-906 (1978)

49) Mitas,J.A.,Levy,S.B.,Holle,R.,Frigon,R.P.,
Stone,R.A.:
Urinary kallikrein activity in the hypertension of renal parenchymal disease.
New.Engl.J.Med.299,
162-165 (1978)

50) Miyashita,A.:
Urinary kallikrein determination and its physical role in human kidney.
Jap.J.Urol.62,
507-518 (1971)

51) Nasjletti,A.,u.Colina-Chourio,J.:
Interaction of mineralocorticoids,renal prostaglandins and the renal kallikrein-kinin-system.
Federation Proc.35,No.2,
189-193 (1976)

52)Nekrasova,A.A.,Khukharev,V.V.:
The renal kinin system in patients with hypertension,and its possible compensatory role in the regulation of renal blood flow.
Kardiologia 12 (8),
14-19 (1973)

53) Ørstavik,T.B.:
The distribution and secretion of kallikrein in some exocrine organs of the rat.
Acta physiol.scand.lo4,
431-442 (1978)

54)Overlack,A.,Stumpe,K.O.,Zywzok,W.,Ressel,C.,
Krück,F.:
Renale Kallikreinausscheidung bei Normotonikern und Hypertonikern unter unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med.84,
8lo-813 (1978)

55) Patona,A.:
Dissertation Würzburg, (in Vorbereitung)

56) Pierucci,A.,Cinotti,G.A.,Simonetti,B.M.,
Taggi,F.,Ronci,R.,Raganelli,L.,Stirati,G.:
Urinary kallikrein excretion in normal
subjects and in patients with essential
hypertension.Minerve Nefrol.26,
19-23 (1979)

57) Porcelli,G.,Bianchi,G.,and Croxatto,H.R.:
Urinary kallikrein excretion in an
spontaneously hypertensive strain of rats.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med.149,
983-986 (1975)

58) Rahn,K.H.,Henquet,J.W.,Kho,T.,Schols,M.,
Thijssen,H.:
Plasmakatecholamine und Renin-Angioten-
sin-System bei der Grenzwerthypertonie.
Symposion on Hypertension.Mainz,Oct.1979

59) Riethling,A.K.,Rostock,G.:
Das Kininogen-Kinin-System - ein humora-
ler Faktor der Herz-Kreislauf-Regulation
bei der Hypertonie?
Dt.Gesundheits-Wesen 31,
712-718 (1976)

60) Röckel,A.and Heidland,A.:
Kallikrein-kinin-system and hypertension.
Contr.Nephrol.,vol.23,
105-124 (1980)

61) Röckel,A.,Stürmer,G.und Heidland,A.:
Kallikrein-Excretion der Niere und
Parotis bei essentieller und renaler
Hypertonie.In Diuretika,Hersg.Rosenthal,
Knauf,Verlag Medizin,Weinheim
185-193 (1980)

62) Rosas,R.,Albertini,R.,Croxatto,H.R.:
Renal-kallikrein-system and Renal
Hypertension.Mayo Clin.Proc.Vol.52,
459-461 (1977)

63) Sealey,J.E.,Atlas,S.A.,Laragh,J.H.
Oza,N.B.,Ryan,J.W.:
Human urinary kallikrein converts
inactive to active renin and is a
possible physiological activator of
renin.
Nature,275 (5676),
144-145 (1979)

64) Seino,M.,Abe,K.,Otsuka,Y.,Saito,T.,
Irokawa,N.,Yasujima,M.,Ciba,S.,
Yoshinaga,K.:
Urinary kallikrein excretion and sodium
metabolism in hypertensive patients.
Tohoku J.experimental Medicine 116 (4),
359-367 (1975)

65) Shkhvatsabaia,I.K.:
The pathogenesis of hypertension.
Kardiologia 12 (8),
5-13 (1973)

66) Shkhvatsabaia,I.K.,Graevskaia,N.D.,
Lantsberg,L.A.,Nekrasova,A.A.:
Certain mechanisms of prophylactic
effect of physical training in hypertensive disease.
Kardiologia 15 (3),
54-59 (1975)

67) Sustarsic,D.L.,Mc Partland,R.P.,Rapp,J.P.,
Schlager,G.,Tan,S.Y.:
Urinary kallikrein and urinary prostaglandin E 2 in genetically hypertensive mice.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med.163 (2),
193-199 (1980)

68) Trautschold,J.,Werle,E.und Bergmeyer,H.U.:
Methoden der enzymatischen Analyse.
s.880 Verlag Chemie Weinheim 1974

69) Weber,P.C.,Scherer,B.,Held,E.,Siess,W.,
Stoffel,H.:
Urinary prostaglandins and kallikrein
in essential hypertension.
Clin.Sci.57 suppl.5,
259-261 (1980)

7o) Werle,E.,Korsten,H.:
Der Kallikreingehalt des Harns,des Speichels und des Blutes bei Gesunden und Kranken.
Z.Ges.Exp.Med.1o3
153 (1938)

71) Wollheim,E.,Lange,K.:
Über einen depressorischen Stoff im Harn und sein Verhalten bei der Blutdruckkrankheit.
Dtsch.med.Wschr.58,
572-573 (1932)

72) Wollheim,E.:
Eine neue körpereigene blutdrucksenkende Substanz und ihre Bedeutung für die Pathogenese der essentiellen Hypertonie.
Schw.med.Wschr.66,
1236-1245 (1936)

73) Wollheim,E.:
Eine neue körpereigene blutdrucksenkende Substanz und ihre Bedeutung für die essentielle Hypertonie.
Acta med.Scand.91,
1-33 (1937)

74) Wollheim,E:
Zur Pathogenese der essentiellen Hypertonie.
Z.klin.Medizin 145,
61-72 (1949)

75) Wollheim,E.,Moeller,J.:
Hypertonie.Handbuch der inneren Medizin,Bd.IX 5,4.Aufl.Springer,Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960

76) Wollheim,E.:
Die essentielle Hypertonie und andere Hochdruckformen - Klinik,Differentialdiagnose und Pathogenese.
Japanische Medizin IV,
543-555 (1967)

77) Wollheim,E.:
Verhalten einer vasoaktiven Polypeptidfraktion im Harn bei verschiedenen Hochdruckformen.
In:Hypertension,Symposion Mainz,Herausg. A.Distler u.H.P.Wolff,
106-113,Thieme,Stuttgart 1974

78) Wollheim,E.:
50 Jahre Hochdruckforschung,Probleme und Ergebnisse.
In:Deutsche Liga zur Bekämpfung des hohen Blutdrucks.Vorträge anlässlich der Mitgliederversammlung in Bonn am 26.Nov.1975

79) Wollheim,E.:
Ist der essentielle Hochdruck eine Krankheitseinheit?
Ber.Physik.Medizin.Gesellschaft Würzburg,N.F.86,33. 1978

8o) Wollheim,E., Arnold,M.,Peterknecht,S.,
Dess,C.,Wollheim,C.B.:
A new test for the diagnosis of genetic hypertension in man, in : Prophylactic approach to diseases,editd by W. Lovenberg,New York 1979

81) Wollheim,E.:
Mögliche Frühdiagnose des essentiellen Hochdrucks durch einen genetischen Marker. Verh.Dtsch.Ges.für inn.Med.86 Kongress. I.F.Bergmann Verl.München, 319. 198o

82) Zinner,S.H.,Margolius,H.S.,Rosner,B.,
Kass,E.:
Stability of blood pressure rank and urinary kallikrein concentration in childhood : An eight-year follow-up.
Blood Circ.Vol.58,
9o8-915 (1978)

83) Zinner,S.H.,Margolius,H.S.,Rosner,B.,
Keiser,H.R.,and Kass,E.H.:
Familial aggregation of urinary kallikrein concentration in childhood:
Relation to blood pressure,race and urinary elektrolyts.
Am.J.Epidem.Vol.1o4,
124-132 (1976)

84) Zschiedrich,H.,Fleckenstein,P.,Geiger,R.,
Fink,E.,Sinterhauf,K.,Philipp,T.,
Distler,A.,Wolff,H.P.:
Urinary kallikrein in normotensive subjects and in patients with essential hypertension.
Clin.Sci.57 Suppl.5,
247-25o (198o

L e b e n s l a u f

Ich wurde am 18.September 1952 in Temesburg, Rumänien,als Sohn des Dipl.Ing.Ladislaus Wiener und seiner Ehefrau Elena Wiener,geb.Szemzö, geboren.

1959 wurde ich in die Temesburger Gesamtschule eingeschult,wo ich bis zu meiner Ausreise 1965 in die Bundesrepublik blieb.Im September 1965 wurde ich in das mathematisch-naturwissenschaftliche Hansa Gymnasium in Köln aufgenommen,wo ich 1972 die Reifeprüfung bestand.

Im Oktober 1972 nahm ich mein Studium der Medizin in Lüttich,Belgien,auf.Zum Sommer-Semester 1975 wurde ich an der Julius-Maximilians Universität Würzburg immatrikuliert. Im August 1976 legte ich die ärztliche Vorprüfung,August 1977 den ersten Abschnitt und August 1979 den zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung ab.Im Praktischen Jahr war ich in den Fächern Innere Medizin,Chirurgie und Urologie tätig.

Nach bestandener Ärztlicher Prüfung erhielt ich die Approbation als Arzt am 27.Oktober 1980.

Seit dem 1.Februar 1981 bin ich als Assistenzarzt an der Chirurgischen Abteilung des St.Martinus Hospitals in Olpe beschäftigt.

Andreas Wiener

Druckerei A. Staudenraus Würzburg